

## ВЛИЯНИЕ ДАВЛЕНИЯ ГАЗОВЫХ СМЕСЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ МОНООКСИД УГЛЕРОДА, КИСЛОРОД И АРГОН, НА СОХРАННОСТЬ ТКАНЕЙ СЕРДЦА КРЫСЫ ПРИ ГИПОТЕРМИЧЕСКОЙ КОНСЕРВАЦИИ

© 2021 г. А.Е. Гурин, Е.Л. Гагаринский, Е.Е. Фесенко (мл.)

*Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3*

*E-mail: gurinae@pbcra.ru*

Поступила в редакцию 25.01.2021 г.

После доработки 12.07.2021 г.

Принята к публикации 08.07.2021 г.

Проведена оценка влияния различных уровней давления газовой смеси монооксида углерода и кислорода на сохранность ткани сердца крысы при пролонгированной гипотермической (4°C) газовой консервации с продолжительностью хранения образцов в течение 24, 36 и 48 ч. При 24-часовой консервации снижение давления газовой смеси CO/O<sub>2</sub> (в соотношении 1:1) с 6.5 до 1.5 атм привело к появлению инфарктных зон (17.74 ± 3.5% от всей площади образца) и нарушению сократительной функции желудочков. При этом показатели сохранности сердца после хранения под давлением 3.5 и 6.5 атм достоверно не различались. При 36- и 48-часовой консервации выявлено преимущество давления величиной 6.5 атм по сравнению с давлением 3.5 атм. Уровни инфарктной зоны после 48 ч консервации составили 33.65 ± 11.96% и 61.92 ± 6.38% соответственно. Поисковое введение в газовую смесь аргона (CO:O<sub>2</sub>:Ar = 2:2:1) для синергического увеличения уровня органопротекции в экспериментах по консервации сердца под давлением 3.5 атм не выявило значимого улучшения показателя сохранности сердечной ткани. Рассмотрены потенциальные механизмы защитного действия смеси монооксида углерода и кислорода в условиях гипотермической консервации.

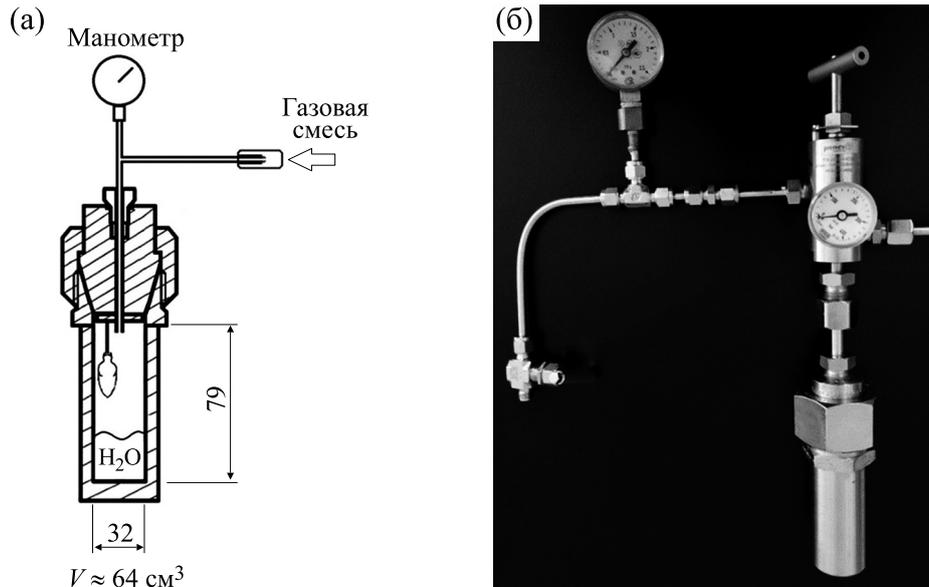
*Ключевые слова: монооксид углерода, кислород, аргон, сердце, консервация, гипотермия.*

DOI: 10.31857/S0006302921050148

Трансплантация органов для многих людей остается единственно возможной процедурой для продления жизни и улучшения ее качества. Несмотря на то что в настоящий момент в мире ежегодно выполняется порядка 154000 трансплантаций [1] (из них в России – порядка 2400 трансплантаций [2]), число пациентов в листах ожидания в четыре-пять раз превосходит число проводимых операций. Сердце является органом, имеющим наименьшее время хранения при использовании стандартных методов статической холодовой консервации (4–6 ч), в отличие от печени (12 ч) и почки (24 ч). Столь малый срок хранения сердца накладывает существенные ограничения на возможность забора данного органа в населенных пунктах, удаленных от крупных медицинских центров, выполняющих пересадки органов. Учитывая, что число таких центров в России ограничено, часть ценного донорского ресурса безвозвратно теряется.

С целью пролонгации сроков гипотермического хранения трансплантатов в последние годы активно развивается направление использования

такого тканевого газового мессенджера, как монооксид углерода (CO). Последний легко проникает через клеточную мембрану, обладает высокой скоростью диффузии в тканях как при физиологических температурах, так и при гипотермии и обладает широким спектром биологических эффектов [3]. В частности, эндогенный CO играет существенную роль в регулировании сосудистого тонуса, функции тромбоцитов и эндотелиальных клеток, апоптоза. Значительное количество доклинических данных указывает на то, что экзогенно введенный CO способен уменьшить ишемически-реперфузионное повреждение, связанное с консервацией и последующей трансплантацией органов [4, 5]. В отдельное направление можно выделить сочетанное использование для консервации органов высоких концентраций монооксида углерода и кислорода. В серии работ на моделях сердца крысы и кролика продемонстрировано существенное преимущество газовой консервации под давлением 4–7 атм [6–10] по критерию предельных сроков консервации (24–72 ч) по сравнению со статической холодовой консервацией в консервирующих раство-



**Рис. 1.** Камера на основе химического реактора Vivor для гипотермической консервации сердца крысы под давлением газовой смеси: (а) – схема работы, (б) – фотографическое изображение камеры.

рах Кустодиола и Виаспана (4–6 ч). В нашей лаборатории впервые газовая консервация смесью CO и O<sub>2</sub> под давлением 6 атм была успешно использована для сердца барана (масса животных 30–40 кг) [11]. Полученные результаты на модели сердца крупного лабораторного животного подтвердили перспективность данного подхода для пролонгации хранения сердца человека.

Вместе с тем используемые сегодня режимы газовой консервации, вероятно, не являются оптимальными. Так, в работе [12] приводятся экспериментальные данные, указывающие на то, что снижение давления до 3.5 атм может улучшить сохранность тканей сердца при консервации. Одной из целей настоящей работы являлась проверка влияния величины давления газовой смеси в процессе консервации на сохранность тканей сердца крысы.

Другой целью являлась оценка перспектив введения в газовую смесь иных газов с органопротекторными свойствами, в частности аргона, для синергического усиления защитного действия. В отношении данного газа накоплен значительный объем данных, свидетельствующих о его способности оказывать анестезирующие (при давлениях выше 10 атм) и нейропротекторные эффекты, а также снижать зону поражения при инсультах и инфарктах миокарда [13–15]. Консервация почек в аргоносодержащем растворе продемонстрировала преимущества по сравнению с контролем по критериям восстановления диуреза, клиренса креатинина и др. [16, 17]. Аналогичные исследования проводятся и в отношении трансплантации легких [15].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на половозрелых самцах крыс линии Вистар массой  $230 \pm 25$  г ( $n = 57$ ).

После наркотизации крыс смесью, состоящей из 80 мкл препарата «Золетил 100» и 20 мкл препарата «Ксила», животных фиксировали на столике и проводили продольную срединную лапаротомию. Далее в нижнюю полую вену вводили раствор гепарина объемом 1 мл из расчета 50 МЕ/мл. Спустя 5 мин проводили продольную срединную стернотомию и выделяли сердце с частью аорты длиной не менее 1 см. Сердце помещали в охлажденный до 4°C раствор Тирода, вводили в аорту канюлю и фиксировали ее лигатурой. Далее сердце вместе с канюлей помещали в подготовленную для последующей консервации камеру.

Экспериментальную газовую смесь готовили путем смешивания отдельных компонентов в кислородном баллоне объемом 5 л. С помощью газовой магистрали, состоящей из манометра, кранов регуляции подачи газа и крана сброса избыточного давления, последовательно нагнетали до требуемого давления каждый из компонентов смеси (O<sub>2</sub>, CO, Ar). В работе использовали газы чистотой не менее 4.0. Все работы с CO проводили в присутствии детекторов угарного газа.

Камеру на основе химического реактора Vivor (Premex, Швейцария) (материал – сталь, см. рис. 1) предварительно охлаждали до температуры 4°C. Для поддержания влажности в камере во время консервации на дно камеры наливали дистиллированную воду до уровня в 1 см. После по-

мещения сердца в камеру проводили продувку последней экспериментальной газовой смесью, с целью вытеснения воздуха. Далее камеру плотно закрывали и нагнетали газовую смесь до достижения требуемого избыточного давления. Камеру помещали в емкость, наполненную водой (4°C) для стабилизации температуры и убирали на хранение в холодильник (4°C). После хранения камеру извлекали из холодильника и проводили дегазацию в течение 15 мин, плавно в ручном режиме сбрасывая давление до атмосферного. Все работы с газом выполняли под вытяжной системой.

В рамках исследования был проведен анализ следующих групп:

1. Группа «Контроль» (6 крыс) – нативное сердце, не подвергавшееся хранению.

2. Группа «Кустодиол» (12 крыс) – хранение в консервирующем растворе Кустодиола при 4°C. Время хранения: 24, 36 и 48 часов.

3. Группа «6.5 АТМ» (12 крыс) – хранение под давлением газовой смеси 6.5 атм, состоящей из СО и О<sub>2</sub> в соотношении 1/1 при 4°C. Время хранения: 24, 36 и 48 часов.

4. Группа «3.5 АТМ» (12 крыс) – хранение под давлением газовой смеси 3.5 атм, состоящей из СО и О<sub>2</sub> в соотношении 1:1 при 4°C. Время хранения: 24, 36 и 48 часов.

5. Группа «1.5 АТМ» (6 крыс) – хранение под давлением газовой смеси 1.5 атм, состоящей из СО и О<sub>2</sub> в соотношении 1:1 при 4°C. Время хранения – 24 часа.

6. Группа «Ar 3.5 АТМ» (9 крыс) – хранение под давлением газовой смеси 3.5 атм, состоящей из СО, О<sub>2</sub> и аргона в соотношении 2:2:1 при 4°C. Время хранения: 24, 36 и 48 часов.

Сердца крыс после консервации подключали к установке ретроградной перфузии по Лангендорфу. Перфузию осуществляли оксигенированным раствором Тироде (37°C) со скоростью  $8 \pm 2$  мл/мин.

Функциональную активность сердца оценивали по максимальному времени работы желудочков сердца на перфузионном стенде до полной остановки сокращений и показателю частоты сердечных сокращений, регистрируемому каждые 15 мин.

Зоны (или очаги) инфаркта миокарда определяли с помощью окрашивания тканей сердца хлоридом трифенилтетразолия. Сердце после консервации реперфузировали на установке для перфузии по Лангендорфу; далее, после 15 мин работы снимали со стенда и охлаждали в течение 2 ч при температуре –10°C; затем получали срезы сердца толщиной 2 мм. Полученные срезы выдерживали в 1%-м растворе хлорида трифенилтетразолия в фосфатном буфере при 37°C в течение

20 мин. Затем помещали срезы в 10%-й формалин на 20 мин для усиления контраста между окрашенными и неокрашенными участками сердечной ткани. Фото срезов получали при помощи стереомикроскопа Leica MZ16A (Leica Microsystems, Германия). Зоны инфаркта в образцах ткани сердца измеряли с использованием программного обеспечения ImageJ (разработчик W. Rasband) и выражали в процентах от общей площади исследуемого образца.

Анализ данных проводили с помощью программного обеспечения SigmaPlot 12.5 (Systat Software Inc, США); данные выражали в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение. Значимость различий определяли с использованием *U*-критерия Манна–Уитни. Значения с  $p < 0.05$  считали статистически значимыми. Также статистическую обработку проводили с использованием линейного регрессионного анализа с построением 95%-го доверительного интервала.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Оценка сохранности изолированного сердца крысы после 24-часовой консервации при различных давлениях газовой смеси СО/О<sub>2</sub>.** Анализ пяти экспериментальных групп – контрольной с нулевым временем хранения, группы «Кустодиол», хранившейся в стандартном консервирующем растворе Кустодиола 24 ч и трех опытных групп с временем хранения 24 ч под давлением газовой смеси 6.5, 3.5 и 1.5 атм – показал, что общее время работы органа после помещения на стенд и проведения ретроградной перфузии оксигенированным раствором Тироде в группах «Контроль», «6.5 АТМ» и «3.5 АТМ» составило  $245 \pm 62$ ,  $340 \pm 34$  и  $280 \pm 60$  мин соответственно. Сократительную активность сердца регистрировали по работе желудочков до их полной остановки (рис. 2а). Показатели частоты сердечных сокращений в контрольной и опытных группах «6.5 АТМ» и «3.5 АТМ» не имели достоверных различий, составив  $140 \pm 27$  уд/мин,  $117 \pm 40$  уд/мин и  $153 \pm 23$  уд/мин соответственно (рис. 2б). В группе «1.5 АТМ» не наблюдалось выраженной сократительной активности желудочков. Сокращения фиксировали только в области предсердий. В группе «Кустодиол» сокращения отсутствовали. Сердце выглядело сжатым, цвет тканей визуально был темнее, чем в контрольной и опытных группах.

Анализ инфарктных зон миокарда в группах «6.5 АТМ» и «3.5 АТМ» практически не выявил пораженных участков (группа «6.5 АТМ» –  $2.75 \pm 0.5\%$  и группа «3.5 АТМ» –  $1.17 \pm 0.3\%$ ). В группах «Кустодиол» и «1.5 АТМ», напротив, были отмечены инфарктные зоны, составившие

$60.36 \pm 8.76\%$  и  $17.74 \pm 3.5\%$  соответственно (рис. 2в).

**Оценка сохранности изолированного сердца крысы при пролонгированной до 48 ч гипотермической консервации под давлением 3.5 и 6.5 атм газовой смеси CO/O<sub>2</sub>.** Для оценки влияния давления газовой смеси на сохранность тканей сердца мы пролонгировали сроки гипотермической консервации, составившие 24, 36 и 48 ч (с шагом 12 ч). Оценку сохранности тканей сердца проводили только методом окрашивания трифенилтетразоля хлоридом.

Анализ трех экспериментальных групп – «Кустодиол», «6.5 АТМ» и «3.5 АТМ» выявил следующее (рис. 3): в группах «6.5 АТМ» и «3.5 АТМ» при 24-часовом хранении доля инфарктных зон была минимальной, составив  $2.75 \pm 0.5\%$  и  $1.17 \pm 0.3\%$  соответственно. В группе «Кустодиол», напротив, были отмечены обширные инфарктные зоны на уровне  $60.36 \pm 8.76\%$ .

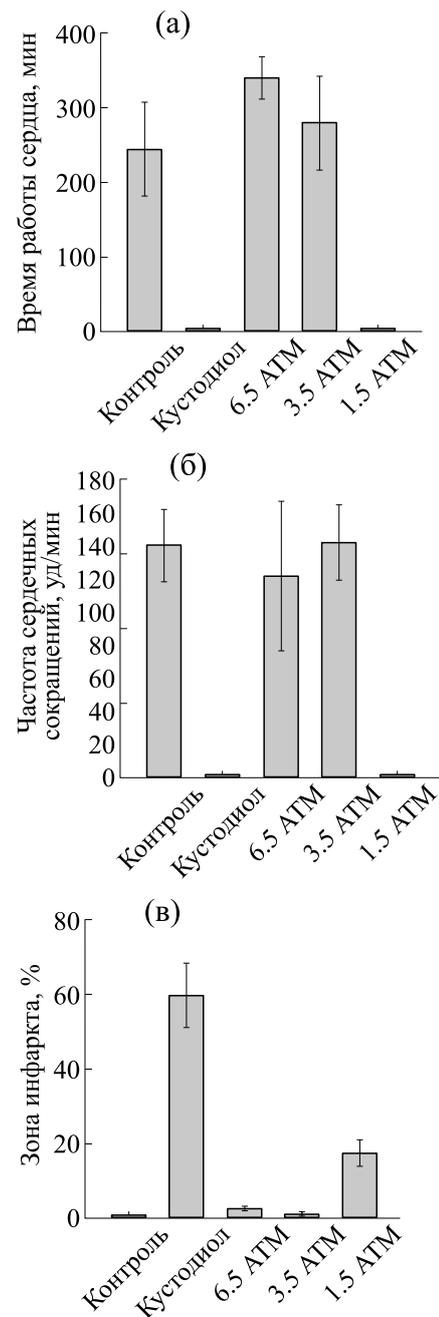
После 36 ч консервации показатель повреждения тканей сердца в группе «6.5 АТМ» почти не изменился, составив  $1.15 \pm 0.62\%$ , а в группе «3.5 АТМ» резко возрос до  $68.76 \pm 16.30\%$ . Уровень инфарктных зон в группе «Кустодиол» фиксировали на уровне  $69.53 \pm 15.09\%$ .

При продлении срока консервации до 48 ч наблюдали значительные инфарктные зоны во всех экспериментальных группах:  $33.65 \pm 11.96\%$  в группе «6.5 АТМ»,  $61.92 \pm 6.38\%$  в группе «3.5 АТМ» и  $75.27 \pm 12.29\%$  в группе «Кустодиол».

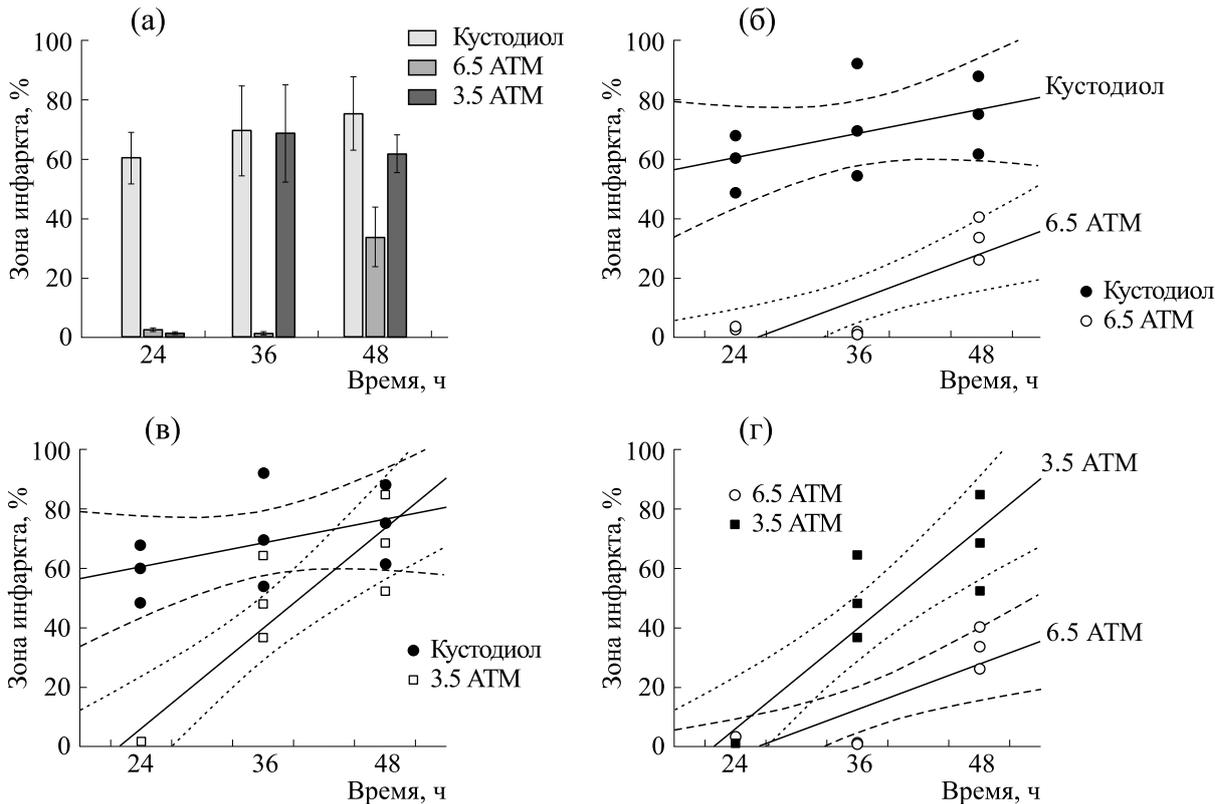
**Влияние аргона в составе газовой смеси CO/O<sub>2</sub> на сохранность изолированного сердца крысы в условиях пролонгированной гипотермической консервации.** Основываясь на данных об органопротекторных свойствах инертного газа аргона, мы провели сравнительный анализ сохранности тканей сердца при гипотермической консервации под давлением смесей CO/O<sub>2</sub> и CO/O<sub>2</sub>/Ar. Соотношение газов в смеси CO/O<sub>2</sub> составило 1:1, в смеси CO/O<sub>2</sub>/Ar – 2:2:1; рабочее давление составило 3.5 атм.

Анализ экспериментальных групп «3.5 АТМ» и «Ar 3.5 АТМ» выявил следующее: в группах «3.5 АТМ» и «Ar 3.5 АТМ» при 24-часовом хранении доля инфарктных зон достоверно различалась, составив  $1.17 \pm 0.3\%$  и  $22.93 \pm 6.08\%$  соответственно (рис. 4).

При продлении срока консервации до 36 и 48 ч наблюдали значительные инфарктные зоны во всех экспериментальных группах:  $68.76 \pm 16.30\%$  и  $61.92 \pm 6.38\%$  в группе «3.5 АТМ»,  $47.91 \pm 7.51\%$  и  $59.18 \pm 16.34\%$  в группе «Ar 3.5 АТМ». Однако достоверные различия между этими группами не были отмечены.



**Рис. 2.** Анализ сохранности изолированного сердца крысы после 24-часовой консервации при 4°C в группах ( $n = 3$ ) «Кустодиол» – хранение в растворе Кустодиола, «6.5 АТМ», «3.5 АТМ» и «1.5 АТМ» – хранение под давлением 6.5, 3.5 и 1.5 атм газовой смеси CO/O<sub>2</sub>. «Контроль» ( $n = 3$ ) – нативное сердце, не подвергнутое процедуре консервации. (а) – Максимальное время работы желудочков сердца до их полной остановки, (б) – частота сердечных сокращений, (в) – площадь инфарктных зон сердца при окрашивании трифенилтетразоля хлоридом. Данные представлены в виде «среднее  $\pm$  стандартное отклонение».



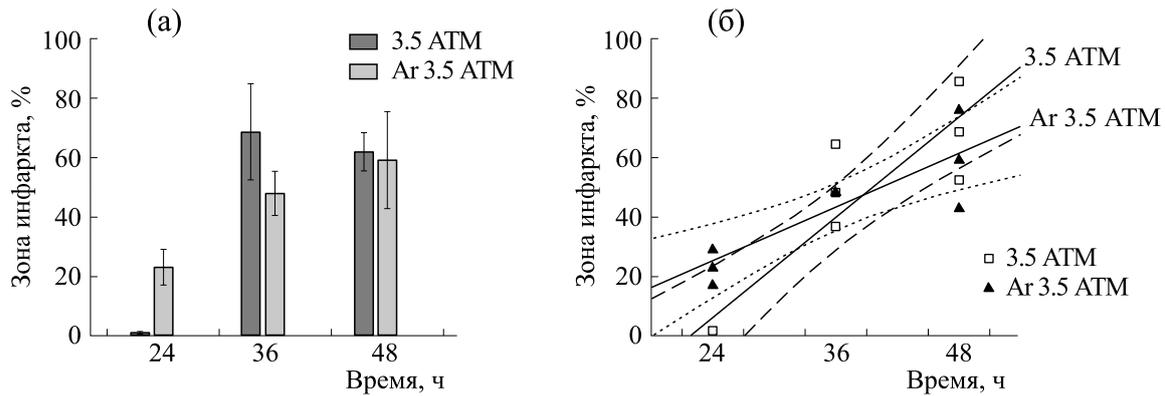
**Рис. 3.** Анализ сохранности изолированного сердца крысы после 24, 36 и 48 ч консервации при 4°C в группах ( $n = 3$ ) «Кустодиол» — хранение в растворе Кустодиола, «6.5 ATM» и «3.5 ATM» — хранение под давлением 6.5 и 3.5 атм газовой смеси  $\text{CO}/\text{O}_2$ . (а) — Площадь зоны инфаркта, данные представлены в виде «среднее  $\pm$  стандартное отклонение»; (б) — регрессионный анализ групп «Кустодиол» и «6.5 ATM»; (в) — регрессионный анализ групп «Кустодиол» и «3.5 ATM»; (г) — регрессионный анализ групп «6.5 ATM» и «3.5 ATM». Для построенных линий регрессии указан 95%-й доверительный интервал.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время число исследований, подтверждающих перспективность применения монооксида углерода как защитного агента для гипотермической консервации различных органов и прежде всего сердца, увеличивается [18–20]. Можно выделить два основных направления исследований: первое направление связано с изучением протективных эффектов низких концентраций  $\text{CO}$ , близких к эндогенным уровням этого газа, обеспечиваемым работой клеточных гемоксигеназ; второе направление предусматривает сочетанное использование высокого давления (до 7 атм) газовых смесей монооксида углерода и кислорода, что обеспечивает сохранность сердечной ткани при гипотермическом хранении от 24 до 72 ч (для сердца) [6–12]. Достижимые сроки хранения при втором подходе в разы превышают 4–6 ч, обеспечиваемые стандартной статической холодной консервацией. Раскрытие механизмов защитного действия, обеспечиваемого сочетанным применением этих двух газов, каждый из которых обладает широким спектром возможных

мишеней на уровне клетки, представляет собой нетривиальную задачу. С учетом этого замечания значительную ценность представляет эмпирический подбор оптимальных условий для достижения наибольшего защитного эффекта, по критериям состава и уровня давления газовой смеси. Такой подход помимо практической пользы позволит сузить направление поисков механизмов, лежащих в основе рассматриваемого феномена.

В нашем исследовании показано, что при гипотермической газовой консервации в течение 24 ч понижение уровня давления газовой смеси  $\text{CO}/\text{O}_2$  1:1 с 6.5 до 1.5 атм привело к появлению инфарктных зон и нарушению сократительной функции желудочков. При этом показатели сердец, которые хранили под давлением 3.5 и 6.5 атм, достоверно не различались. Таким образом, уровень давления 3.5 атм был признан пороговым, ниже которого не имеет смысла опускаться в дальнейших экспериментах. Отрицательные данные, полученные при хранении сердца в консервирующем растворе Кустодиола, были ожидаемы с учетом того, что данные сроки хранения в четы-



**Рис. 4.** Анализ сохранности изолированного сердца крысы после 24, 36 и 48 ч консервации при 4°C в группах ( $n = 3$ ) «3.5 ATM» — хранение под давлением 3.5 атм газовой смеси CO/O<sub>2</sub> (1:1) и «Ar 3.5 ATM» — хранение под давлением 3.5 атм газовой смеси CO/O<sub>2</sub>/Ar (2:2:1). (а) — Площадь зоны инфаркта, данные представлены в виде «среднее ± стандартное отклонение»; (б) — регрессионный анализ групп «3.5 ATM» и «Ar 3.5 ATM». Для построенных линий регрессии указан 95%-й доверительный интервал.

ре раза превышают допустимые для данного раствора.

Мы изначально предполагали, что уровень инфарктной зоны при пролонгации гипотермического хранения с 24 до 36 и 48 ч также окажется сходным в условиях давления 3.5 и 6.5 атм. Однако результаты оказались иными. Уровень инфарктной зоны при 36-часовой консервации под избыточным давлением 6.5 атм был приближен к показателям интактного контроля, тогда как под давлением 3.5 атм — резко возрос до показателей группы «Кустодиол». Из этого можно сделать вывод, что при пролонгации времени хранения с одновременным понижением избыточного давления до 3.5 атм органопротекторные свойства газовой смеси снижаются. При увеличении срока хранения до 48 ч наблюдали увеличение площади инфарктной зоны в группе «6.5 ATM» до 20–40% от всей площади образца, а также одинаково высокий уровень повреждений — 50–70% в группах «Кустодиол» и «3.5 ATM». Полученный результат отличается от данных, приведенных в работе [12], где было показано незначительное преимущество аналогичной смеси под давлением 3.5 атм при 48-часовом хранении по сравнению с давлением 7 атм. Различия в результатах могут быть обусловлены применением разных методик постановки консервации (промывка сердца, камера, время дегазации и др.) и/или способом анализа сохранности сердец (гетеротопическая трансплантация). Для окончательной верификации оптимальных значений давления могут потребоваться дополнительные исследования на большей выборке.

Следует отметить, что поисковое введение в газовую смесь аргона для увеличения уровня органопротекции [14, 15] в экспериментах по консервации сердца под давлением 3.5 атм не выяви-

ло значимых улучшений сохранности сердечной ткани. Однако это может быть обусловлено как низким уровнем положительного влияния самого аргона, так и снижением количеств ключевых компонентов смеси — монооксида углерода и кислорода — ниже оптимального уровня. Для окончательного исключения аргона как перспективного компонента консервирующих газовых смесей запланированы эксперименты под повышенным давлением.

Обсуждая перспективы применения газовых смесей в области трансплантации органов, нельзя не затронуть потенциальные механизмы сочетанного действия CO и O<sub>2</sub>, ведь раскрытие этих механизмов в перспективе позволит «проектировать» оптимальные условия консервации. Основными молекулярными мишенями высоких концентраций CO вероятнее всего являются металлосодержащие (железо, медь, цинк и др.) белки. Железо — самый распространенный элемент переходных металлов в организме, и содержится в гемоглобине (66%), миоглобине (3%), гемсодержащих ферментах (0.1%), накоплениях в виде внутриклеточного ферритина (30%) и внеклеточного трансферрина (0.1%) [21]. Гемсодержащие ферменты играют решающую роль в регулировании клеточной функции и включают каталазу, циклооксигеназу, цитохром *c*, цитохром P450, цитохром-*c*-оксидазу, гуанилатциклазу, НАДФН-оксидазу, NO-синтазы и ряд других ферментов. Показано, что монооксид углерода ингибирует цитохром-*c*-оксидазу [22] и цитохром *c* [23]. Было показано, что прогрессирующее ингибирование активности цитохром-*c*-оксидазы повышенным воздействием концентраций CO может привести к общему снижению функции дыхательной цепи митохондрий [24]. Таким образом, функция CO *in vivo* может быть опосредована связыванием с гемсодер-

жащими ферментами. При этом в условиях, когда орган отмыт от крови и лишен пула гемоглобина, связывание с последними может протекать эффективнее. Ключевыми органеллами клетки, на которые воздействует СО, являются митохондрии [25], так как значительная часть гемосодержащих ферментов сосредоточена именно там. Также косвенное наблюдение говорит о том, что защитное действие СО лучше реализуется в тканях с высоким содержанием митохондрий. Так, количественное содержание белковых комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий снижается в ряду сердце > почки > легкие [26]. Для цитохром-с-оксидазы количественное содержание в этих тканях составляет соответственно 90, 60 и 30% от максимального. При этом отмеченное увеличение предельных сроков консервации с использованием газовой смеси СО и О<sub>2</sub> оказалось максимальным для сердца и менее выраженным для почек [27] или печени (данные не опубликованы). Связывание и ингибирование ряда ключевых митохондриальных ферментов монооксидом углерода теоретически должно приводить к снижению энергетической функции митохондрий и падению продукции АТФ.

Кислород, с другой стороны, является важнейшим элементом биоэнергетики клетки. Митохондрии принято называть внутриклеточными «энергетическими станциями», так как их функцией является извлечение энергии из органических соединений (субстратов) и кислорода, который их окисляет. Нужно подчеркнуть, что энергия извлекается не только из субстратов, но и непосредственно из кислорода, который, присоединяя протоны и электроны, дает в итоге воду с высвобождением заметной энергии [28]. При анаэробных процессах высвобождается гораздо меньше энергии, чем при аэробных. Перфузия органов газообразным кислородом (персуфляция) как метод снижения повреждений при тепловой и холодовой ишемии имеет длительную историю [29]. Недавно Университетом Ньюкасла был представлен прототип аппарата, использующего метод кислородной персуфляции для сохранения жизнеспособности трансплантатов [30]. Таким образом, можно предположить два разнонаправленных действия, оказываемых смесью газов на клеточное дыхание, что в итоге приводит к поддержанию определенного предположительно сниженного, но стабильного уровня аэробного метаболизма в процессе консервации. Поддержание последнего не дает клеткам переключиться на анаэробный тип дыхания, сопровождающийся накоплением молочной кислоты, снижением продукции АТФ и далее каскадом гипоксических нарушений. В недавней работе [10] было показано, что уровень АТФ в тканях сердца, подвергнутых 24-часовой газовой консервации смесью СО/О<sub>2</sub> ( $\approx 1.5 \times 10^{-5}$  ммоль/г), превышает уровень АТФ контрольной группы

сердца, хранившейся в консервирующем растворе Виаспана ( $\approx 5.0 \times 10^{-6}$  ммоль/г), и не уступает показателям интактного контроля. В то же время анализ метаболической карты выявил накопление молочной кислоты в контроле (Виаспан) по сравнению с опытом. В целом в работе делается вывод о сохранении тканями в процессе газовой консервации аэробного метаболизма, продукции АТФ и снижении окислительного стресса. В рамках сформулированной гипотезы, снижение эффективности консервации при понижении давления может быть связано с расходом кислорода в процессе консервации и постепенным изменением соотношения газов в смеси. Мы планируем проверить это предположение в ближайшем будущем.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-34-90132/20 от 18 августа 2020 г.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите животных 2010/63/EU.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Global Observatory on Donation and Transplantation*. URL: <http://www.transplant-observatory.org>
2. С. В. Готье и С. М. Хомяков, Вестн. трансплантологии и искусственных органов **22** (2), 8 (2020).
3. Е. Г. Старикова, Дис. ... докт. мед. наук (Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 2014).
4. S. Ozaki, I. Kawase, H. Yamashita, et al., *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* **12** (4), 550 (2011).
5. C. Steiger, J. Wollborn, M. Gutmann, et al., *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **97**, 96 (2015).
6. A. Nakao, J. S. Neto, S. Kanno, et al., *Am. J. Transplant.* **5** (2), 282 (2005).
7. N. Hatayama, M. Naito, S. Hirai, et al., *Cell Transplant.* **21** (2), 609 (2012).
8. N. Hatayama, M. Inubushi, M. Naito, et al., *Sci. Rep.* **6**, 32120 (2016).
9. C. Suzuki, N. Hatayama, T. Ogawa, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **21** (22), 8858 (2020).
10. P. Y. Zhou, Z. Zhang, Y. L. Guo, et al., *Transplant. Proc.* **47** (9), 2746 (2015).
11. Е. Е. Фесенко, Е. Л. Гагаринский, А. С. Аверин и др. *Биофизика* **65** (4), 1 (2020).

12. N. Hatayama, S. Hirai, K. Fukushige, et al., *Sci. Rep.* **9** (1), 7480 (2019).
13. D. S. Nowrangi, J. Tang, and J. H. Zhang, *Med. Gas Res.* **4** (1), 3 (2014).
14. S. G. Nair, *Ann. Card. Anaesth.* **22** (2), 111 (2019).
15. F. Nespoli, S. Redaelli, L. Ruggeri, et al., *Ann. Card. Anaesth.* **22**, 122 (2019).
16. Y. Irani, J. L. Pype, A. R. Martin, et al., *Nephron Extra* **1** (1), 272 (2011).
17. A. Faure, L. Bruzzese, J. G. Steinberg, et al., *J. Transl. Med.* **14**, 40 (2016).
18. A. Nakao and Y. Toyoda, *Curr. Pharm. Biotechnol.* **13** (6), 827 (2012).
19. S. Ozaki, I. Kawase, H. Yamashita, et al., *Circ. J.* **79** (7), 1504 (2015).
20. V. L. Mahan, *Med. Gas Res.* **10** (1), 37 (2020).
21. K. S. Ozaki, S. Kimura, and N. Murase, *Transplant. Rev.* **26** (2), 125 (2012).
22. B. S. Zuckerbraun, B. Y. Chin, M. Bilban, et al., *FASEB J.* **21**, 1099 (2007).
23. T. Leemann, P. Bonnabry, and P. Dayer, *Life Sci.* **54**, 95 (1994).
24. J. R. Alonso, F. Cardellach, and S. López, *Pharmacology & Toxicology* **93**, 142 (2003).
25. A. S. Almeida, C. Figueiredo-Pereira, and H. L. Vieira, *Front. Physiol.* **6**, 33 (2015).
26. K. L. McLaughlin, J. T. Hagen, H. S. Coalson, et al., *Sci. Rep.* **10**, 17599 (2020).
27. T. Abe, K. Yazawa, M. Fujino, et al., *Lab. Invest.* **97** (4), 468 (2017).
28. Н. Л. Векшин, *Биофизика митохондрий («Фотон-Век»*, Пушино, 2019).
29. T. M. Suszynski, M. D. Rizzari, W. E. Scott, et al., *J. Cardiothorac. Surg.* **8**, 105 (2013).
30. *Novel organ preservation device to reduce transplant waiting list*. URL: <https://www.ncl.ac.uk/press/articles/latest/2020/08/scubatxorganpreservationdevice/>

## Effects of Pressures of Gas Mixtures Containing Carbon Monoxide, Oxygen and Argon on the Preservation of Rat Heart Tissues in Hypothermic Conditions

A.E. Gurin, E.L. Gagarinsky, and E.E. Fesenko (Jr.)

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The effects of different pressures of carbon monoxide-oxygen gas mixtures on the preservation of the rat heart tissue after prolonged hypothermia throughout 24-, 36- and 48-hour storage period at 4°C were evaluated. During 24-hour storage, a decrease in the pressure of the CO/O<sub>2</sub> gas mixture (1:1) from 6.5 to 1.5 atm resulted in the appearance of infarct zones ( $17.74 \pm 3.5\%$  of the sample mass), and impaired ventricular contractile function. At the same time, preservation rates of hearts stored at 3.5 and 6.5 atm did not differ significantly. During 36- and 48-hour storage, it was found that a pressure of 6.5 atm had a predominant effect over that of 3.5 atm. After 48-hour storage, the infarct sizes were  $33.65 \pm 11.96\%$  and  $61.92 \pm 6.38\%$ , respectively. The exploratory introduction of argon into the CO/O<sub>2</sub> gas mixture (the CO/O<sub>2</sub>/Ar ratio = 2:2:1) aimed to synergistically increase the level of myocardial protection in experimental studies at 3.5 atm did not significantly improve cardiac tissue preservation. The potential mechanisms of the protective action of the mixture of carbon monoxide and oxygen in hypothermic conditions were considered.

*Keywords: carbon monoxide, oxygen, argon, heart, preservation, hypothermia*